# PanaceaGel取扱説明書

# 96ウェルプレートを使用した3次元細胞培養法

## 使用試薬・器具 {( )内は条件・容量などの具体例}

- 96 ウェル プレート
- インキュベーター(37℃、5% $CO_2$)
- ご使用になられる細胞
- 血清不含培地
- 血清含有培地(10% ウシ血清など)
- 細胞解離液(トリプシン処理液など)
- 遠心管(容量15mL)
- 遠心機
- PanaceaGel (SPG-178-204)
- 容量可変ピペット(200, 1000μL 用)
- ピペットチップ(200, 1000μL 用)

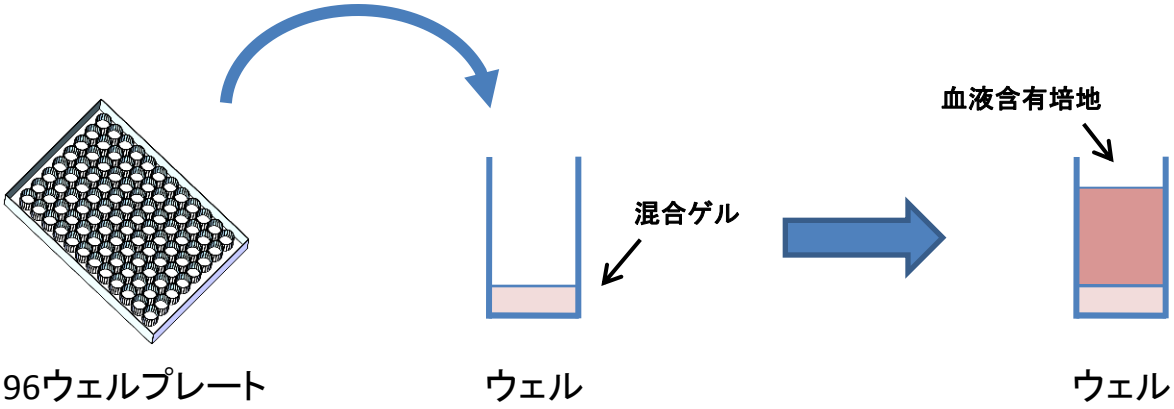
## 操作手順

### 1. 細胞懸濁液の調製

1-1 培養シャーレやウェルプレート上など任意の方法で培養された細胞を細胞解離液(ここではトリプシン処理液を用いた例を示します)により浮遊させる。
1-2 血清含有培地を加えてトリプシンを無効化した後、細胞懸濁液を遠心管に入れる。
1-3 遠心(条件:200×g、3minなど)により細胞のペレットを作製し、上清を吸引除去する。
1-4 細胞ペレットを血清不含培地で再懸濁し、遠心後、上清を吸引除去する。
1-5 1-4の操作を再度繰り返す。
1-6 細胞ペレットに血清不含培地を加え、希望の最終濃度の2倍となるようにする。
1-7 最終濃度の2倍に調整された細胞懸濁液をマイクロチューブに移す。

### 2. PanaceaGelと細胞懸濁液の混合およびウェルへの添加

2-1 PanaceaGelの入ったバイアルを軽く揺すり、流動性を確認する。＊流動性が低く、ピペッティングが難しい場合は、恒温槽タイプの超音波照射器内で揺すりながら超音波照射を行うことで流動性を向上させることが可能です。
2-2 1-7の細胞懸濁液の入ったマイクロチューブへ、PanaceaGelを容量比1:1で加え、ピペッティングにより、混合する。＊混合時は気泡が入らないようにご注意ください。気泡が入ってしまった場合は卓上遠心機などを利用し、気泡を取り除いてください。
2-3 混合ゲルを96ウェルプレートの各ウェルの底面がゲルで覆われるまで加える。(一般的に、ウェルの底面をカバーするためには60-80μLの混合ゲルが必要です。あらかじめ、必要量をお調べ頂いておくことをお勧めいたします) 各ウェルへ血清含有培地(混合ゲルの3～4倍程度)をゲルを壊さないように静かに加える。




### 3. 細胞培養の開始

3-1 96ウェルプレートをインキュベーターに保存し3次元培養を開始する。
3-2 任意の頻度(2～3回／週程度)で培地交換を行う。

＜使用上の注意＞
●本試薬は研究用です。人体へのご使用や臨床用試薬としてのご使用は行わないで下さい。

お問い合わせ先
株式会社メニコン　ライフサイエンス事業部
e-mail: info@menicon-lifescience.com